

特許協力条約

発信人 日本国特許庁（国際予備審査機関）

代理人

酒井 一

様

あて名

〒102-0083

日本国東京都日本国東京都千代田区麹町5丁目7
番地 秀和和紀尾井町TBRビル

PCT

特許性に関する国際予備報告（特許協力条約第二章）の
送付の通知書

（法施行規則第57条）

〔PCT規則71.1〕

発送日

（日.月.年）

15. 11. 2005

出願人又は代理人

の書類記号 10204

重要な通知

国際出願番号

PCT/J P 2004/008970

国際出願日

（日.月.年） 25. 06. 2004

優先日

（日.月.年） 25. 06. 2003

出願人（氏名又は名称）

日本油脂株式会社

1. 国際予備審査機関は、この国際出願に関して特許性に関する国際予備報告及び付属書類が作成されている場合には、それらをこの送付書とともに送付することを、出願人に通知する。

2. 国際予備報告及び付属書類が作成されている場合には、すべての選択官庁に通知するために、それらの写しを国際事務局に送付する。

3. 選択官庁から要求があったときは、国際事務局は国際予備報告（付属書類を除く）の英語の翻訳文を作成し、それをその選択官庁に送付する。

4. 注 意

出願人は、各選択官庁に対し優先日から30月以内に（官庁によってはもっと遅く）所定の手続（翻訳文の提出及び国内手数料の支払い）をしなければならない（PCT39条（1））（様式PCT/1B/301とともに国際事務局から送付された注を参照）。

国際出願の翻訳文が選択官庁に提出された場合には、その翻訳文は、特許性に関する国際予備報告の付属書類の翻訳文を含まなければならない。この翻訳文を作成し、関係する選択官庁に直接送付するのは出願人の責任である。

選択官庁が適用する期間及び要件の詳細については、PCT出願人の手引き第II巻を参照すること。

出願人はPCT第33条(5)に注意する。すなわち、PCT第33条(2)から(4)までに規定する新規性、進歩性及び産業上利用可能性の基準は国際予備審査にのみ用いるものであり、締約国は、請求の範囲に記載されている発明が自国において特許を受けることができる発明であるかどうかを決定するに当たっては、追加の又は異なる基準を適用することができる（PCT第27条(5)も併せて参照）。そのような追加の基準は、例えば、実施可能要件や特許請求の範囲の明確性及び裏付け要件を、特許要件から免除することを含む。

名称及びあて名

日本国特許庁（IPEA/J P）

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

権限のある職員

特 許 庁 長 官

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

4B

3334

様式PCT/IPEA/416（2004年1月）

添付用紙の注意書きを参照

注 意

1. 文献の写しの請求について

国際予備審査報告に記載された文献であって国際調査報告に記載されていない文献の複写

特許庁にこれらの引用文献の写しを請求することもできますが、独立行政法人工業所有権情報・研修館（特許庁庁舎2階）で公報類の閲覧・複写および公報以外の文献複写等の取り扱いをしています。

〔担当及び照会先〕

〒100-0013 東京都千代田区霞が関3丁目4番3号（特許庁庁舎2階）

独立行政法人工業所有権情報・研修館

【公報類】 閲覧部 TEL 03-3581-1101 内線3811～2

【公報以外】 資料部 TEL 03-3581-1101 内線3831～3

また、（財）日本特許情報機構でも取り扱いをしています。

これらの引用文献の複写を請求する場合は下記の点に注意してください。

〔申込方法〕

（1）特許（実用新案・意匠）公報については、下記の点を明記してください。

○特許・実用新案及び意匠の種類

○出願公告又は出願公開の年次及び番号（又は特許番号、登録番号）

○必要部数

（2）公報以外の文献の場合は、下記の点に注意してください。

○国際予備審査報告の写しを添付してください（返却します）。

〔申込み及び照会先〕

〒135-0016 東京都江東区東陽4-1-7 佐藤ビル

財団法人 日本特許情報機構 情報処理部業務課

TEL 03-3508-2313

注）特許庁に対して文献の写しの請求をすることができる期間は、国際出願日から7年です。

2. 各選択官庁に対し、国際出願の写し（既に国際事務局から送達されている場合は除く）及びその所定の翻訳文を提出し、国内手数料を支払うことが必要となります。その期限については各国ごとに異なりますので注意してください。（条約第22条、第39条及び第64条(2)(a)(i)参照）

10/562015

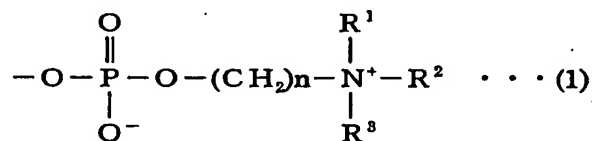
[0005] 本発明の目的は、煩雑な手法を用いることなく、容易にES細胞より胚様体を形成するために使用する胚様体形成用容器を提供することにある。

本発明の別の目的は、煩雑な手法を用いることなく、容易にES細胞を培養し、胚様体を形成できる胚様体の形成方法を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0006] 本発明によれば、胚性幹細胞(ES細胞)を浮遊培養させ胚様体を形成するための胚様体形成用容器であって、ES細胞を浮遊培養するための領域を形成するための容器表面に、式(1)で表されるホスホリルコリン類似基(以下、PC類似基と略記)を有する化合物を用いて形成した被覆層を備える胚様体形成用容器が提供される。

[化1]



(式中、 R^1 、 R^2 及び R^3 は同一もしくは異なる基であって、水素原子、炭素数1～6のアルキル基又はヒドロキシアルキル基を示す。 n は1～4の整数である。)

また本発明によれば、ES細胞を浮遊培養するための領域を形成するための容器表面に、前記式(1)で表されるPC類似基を有する化合物を用いて形成した被覆層を備える胚様体形成用容器を準備する工程(A)と、胚様体形成用容器内において、胚様体を形成するためにES細胞を浮遊培養する工程(B)とを含む胚様体の形成方法が提供される。

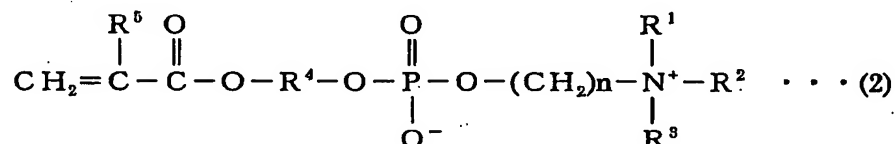
更に本発明によれば、ES細胞を浮遊培養させ胚様体を形成するための胚様体形成用容器の使用であって、該容器のES細胞を浮遊培養するための領域を形成する表面に、前記式(1)で表されるPC類似基を有する化合物を用いて形成した被覆層を備える胚様体形成用容器の使用が提供される。

発明の効果

[0007] 本発明の胚様体の形成方法は、本発明の胚様体形成用容器を用いて培養するので、従来のハンギング・ドロップ法のES細胞の培養における、煩雑な手法を用いるこ

前記PC類似基を有する重合体は、式(1)で表されるPC類似基を有するポリマーであれば良く、例えば、式(2)で表されるPC類似基含有単量体(M)の単独重合体、及び該単量体(M)と他の単量体との共重合体の少なくとも1種が好ましく挙げられる。

[0011] [化2]



式(2)中、 R^1 、 R^2 、 R^3 及び n は式(1)と同様であり、 R^4 は炭素数1～6のアルキル基を示し、 R^5 は水素原子又はメチル基を示す。

[0012] 式(2)で表される単量体(M)としては、例えば、2-((メタ)アクリロイルオキシ)エチル-2'-(トリメチルアンモニオ)エチルホスフェート、3-((メタ)アクリロイルオキシ)プロピル-2'-(トリメチルアンモニオ)エチルホスフェート、4-((メタ)アクリロイルオキシ)ブチル-2'-(トリメチルアンモニオ)エチルホスフェート、5-((メタ)アクリロイルオキシ)ペンチル-2'-(トリメチルアンモニオ)エチルホスフェート、6-((メタ)アクリロイルオキシ)ヘキシル-2'-(トリメチルアンモニオ)エチルホスフェート、2-((メタ)アクリロイルオキシ)エチル-2'-(トリエチルアンモニオ)エチルホスフェート、2-((メタ)アクリロイルオキシ)エチル-2'-(トリプロピルアンモニオ)エチルホスフェート、2-((メタ)アクリロイルオキシ)エチル-2'-(トリブチルアンモニオ)エチルホスフェート、2-((メタ)アクリロイルオキシ)エチル-2'-(トリシクロヘキシルアンモニオ)エチルホスフェート、2-((メタ)アクリロイルオキシ)エチル-2'-(トリフェニルアンモニオ)エチルホスフェート、2-((メタ)アクリロイルオキシ)プロピル-2'-(トリメチルアンモニオ)エチルホスフェート、2-((メタ)アクリロイルオキシ)ブチル-2'-(トリメチルアンモニオ)エチルホスフェート、2-((メタ)アクリロイルオキシ)ペンチル-2'-(トリメチルアンモニオ)エチルホスフェート、2-((メタ)アクリロイルオキシ)ヘキシル-2'-(トリメチルアンモニオ)エチルホスフェート等が挙げられる。

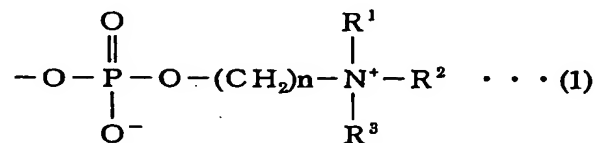
[0013] 中でも2-((メタ)アクリロイルオキシ)エチル-2'-(トリメチルアンモニオ)エチルホスフェートが好ましく、さらに2-(メタ)アクリロイルオキシ)エチル-2'-(トリメチルアンモニオ)

請求の範囲

[1](補正後) 胚性幹細胞を浮遊培養させ胚様体を形成するための胚様体形成用容器であって

胚性幹細胞を浮遊培養するための領域を形成するための容器表面に、式(1)で表されるホスホリルコリン類似基を有する化合物を用いて形成した被覆層を備える胚様体形成用容器。

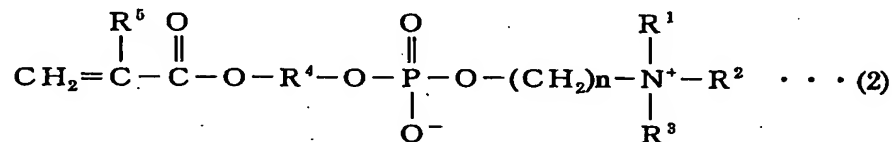
[化1]



(式中、 R^1 、 R^2 及び R^3 は同一もしくは異なる基であって、水素原子、炭素数1～6のアルキル基又はヒドロキシアルキル基を示す。 n は1～4の整数である。)

[2](補正後) ホスホリルコリン類似基を有する化合物が、式(2)で表されるホスホリルコリン類似基含有単量体(M)の単独重合体、及び該単量体(M)と他の単量体との共重合体の少なくとも1種である請求項1の胚様体形成用容器。

[化2]



(式中、 R^1 、 R^2 及び R^3 は同一もしくは異なる基であって、水素原子、炭素数1～6のアルキル基又はヒドロキシアルキル基を、 R^4 は炭素数1～6のアルキル基を、 R^5 は水素原子又はメチル基を示す。 n は1～4の整数である。)

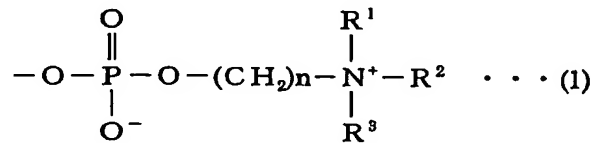
[3] 前記被覆層を形成した容器表面における、X線高電子分光分析によって測定したスペ

クトルに基づくリン元素の量Pと炭素元素の量Cとの比(P/C)が、0.002～0.3である請求項1の胚様体形成容器。

[4](補正後) 胚性幹細胞を浮遊培養するための領域を形成するための容器表面に、式(1)で表

されるホスホリルコリン類似基を有する化合物を用いて形成した被覆層を備える胚様体形成用容器を準備する工程(A)と、

[化3]

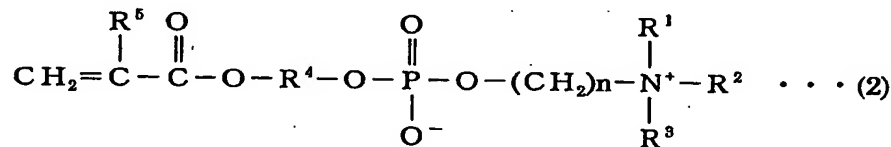


(式中、 R^1 、 R^2 及び R^3 は同一もしくは異なる基であって、水素原子、炭素数1～6のアルキル基又はヒドロキシアルキル基を示す。 n は1～4の整数である。)

胚様体形成用容器内において、胚様体を形成するために胚性幹細胞を浮遊培養する工程(B)とを含む胚様体の形成方法。

- [5] (補正後) ホスホリルコリン類似基を有する化合物が、式(2)で表されるホスホリルコリン類似基含有単量体(M)の単独重合体、及び該単量体(M)と他の単量体との共重合体の少なくとも1種である請求項4の形成方法。

[化4]



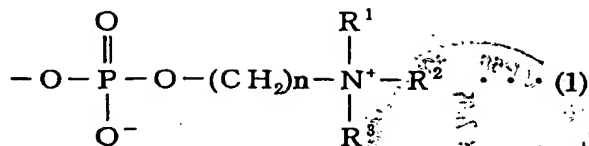
(式中、 R^1 、 R^2 及び R^3 は同一もしくは異なる基であって、水素原子、炭素数1～6のアルキル基又はヒドロキシアルキル基を、 R^4 は炭素数1～6のアルキル基を、 R^5 は水素原子又はメチル基を示す。 n は1～4の整数である。)

- [6] 前記被覆層を形成した容器表面における、X線高電子分光分析によって測定したスペ

クトルに基づくリン元素の量Pと炭素元素の量Cとの比(P/C)が、0.002～0.3である請求項4の形成方法。

- [7] (補正後) 胚性幹細胞を浮遊培養させ胚様体を形成するための胚様体形成用容器の使用であって、該容器の胚性幹細胞を浮遊培養するための領域を形成する表面に、式(1)で表されるホスホリルコリン類似基を有する化合物を用いて形成した被覆層を備える胚様体形成用容器の使用。

[化5]



(式中、 R^1 、 R^2 及び R^3 は同一もしくは異なる基であつて、水素原子、炭素数1～6のアルキル基又はヒドロキシアルキル基を示す。 n は1～4の整数である。)